

УДК 578.24,571.27,577.218

ИММУНОСУПРЕССОРНЫЕ ДОМЕНЫ РЕТРОВИРУСОВ: КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЧЕЛОВЕКА

© 2013 г. В. М. Блинов¹, Г. С. Краснов^{1,2*}, А. В. Шаргунов¹, М. А. Шурдов³, В. В. Зверев¹

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова Российской академии медицинских наук, Москва, 105064

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991

³ООО “Панаген”, Горно-Алтайск, 649000

Поступила в редакцию 04.03.2013 г.

Принята к печати 14.04.2013 г.

Патогенные свойства многих ретровирусов обусловлены иммуносупрессорными доменами, локализованными в их поверхностных гликопротеинах. Эти домены взаимодействуют с иммунокомпетентными клетками и обеспечивают снижение интенсивности иммунного ответа. За подобную модуляцию отвечает фрагмент иммуносупрессорного домена, состоящий из 17 аминокислотных остатков (CKS-17). Долгое время механизмы влияния этого домена на иммунные клетки человека оставались неизвестными. Ключевым звеном этих механизмов считается регуляция сигнальных путей Ras-Raf-МЕК-МАРК и PI3K-AKT-mTOR, которая приводит, в конечном итоге, к снижению секреции стимуляторных цитокинов (например, интерлейкина 12) и повышению секреции противовоспалительных, ингибиторных молекул (например, интерлейкина 10). В то же время, первичной мишенью иммуносупрессорных доменов служит, по-видимому, одна из рецепторных тирозинкиназ, индуцирующая передачу сигнала по этим путям, а ключевые регуляторы – сАМР и диацилглицерин – действуют как вторичные посредники. Иммуносупрессорные домены обнаружены не только у ретро-, но и у многих других вирусов, включая возбудителей геморрагической лихорадки Эбола, что и стало причиной их столь высокой патогенности для человека. Ряд областей ретровирусного происхождения, отвечающих за иммунную супрессию, найден и в геноме человека. Эти участки экспрессируются в плаценте в составе генов синцитинов, белковые продукты которых определяют неприкосновенность плаценты и эмбриона со стороны иммунной системы матери. Настоящий обзор посвящен молекулярным аспектам иммунной модуляции, осуществляемой ретровирусными иммуносупрессорными доменами.

Ключевые слова: иммунная супрессия, иммуносупрессорные домены, поверхностные гликопротеины, CKS-17, сигнальный путь Ras-Raf-МЕК-МАРК, сигнальный путь PI3K-AKT-mTOR.

MECHANISMS OF RETROVIRAL IMMUNOSUPPRESSIVE DOMAIN-INDUCED IMMUNE MODULATION, by V. M. Blinov¹, G. S. Krasnov^{1,2*}, A. V. Shargunov¹, M. A. Shurdov³, V. V. Zverev¹ (¹Mechnikov Research Center for Vaccines and Sera, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 105064 Russia; *e-mail: gskrasnov@mail.ru; ²Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; ³LLC Panagen, Gorno-Altai, 649000 Russia). Immunosuppressive domains (ISD) of viral envelope glycoproteins provide highly pathogenic phenotypes of various retroviruses. ISD interaction with immune cells leads to an inhibition of a response. In the 1980s it was shown that the fragment of ISD comprising of 17 amino acids (named CKS-17) is carrying out such immune modulation. However the underlying mechanisms were not known. The years of thorough research allowed to identify the regulation of Ras-Raf-MEK-MAPK and PI3K-AKT-mTOR cellular pathways as a result of ISD interaction with immune

Принятые сокращения: ИС – иммуносупрессорный (при определяемом слове); MAPK (ERK), mitogen-activated protein kinase (extracellular signal-regulated kinase) – митоген-активируемая протеинкиназа (киназы, регулируемые внеклеточными сигналами); MNK, MAPK interacting kinase – киназа, взаимодействующая с MAPK; MEK, MAPK/ERK kinase – киназа, активирующая MAPK; CREB, CRE (cAMP response elements) binding protein – белок, связывающийся с сАМР-регулируемыми элементами; GPCR, G protein-coupled receptor – рецептор, сопряженный с G-белком; RTK, receptor tyrosine kinase – рецепторная тирозинкиназа; PL, phospholipase – фосфолипаза (при обозначении фермента); PIP2/PIP3, phosphatidylinositol bisphosphate/trisphosphate – фосфатидилинозитолбисфосфат/трифосфат; IRF – interferon-regulatory factor – регулируемый интерфероном фактор; CAP, adenylate cyclase associated protein – белок, ассоциированный с аденилатциклазой; PK, protein kinase – протеинкиназа (при обозначении фермента); IL, interleukin – интерлейкин; TNF, tumor necrosis factor – фактор некроза опухоли; EGF, epidermal growth factor – эпидермальный фактор роста; EGFR, EGF receptor – рецептор EGF; VEGF, vascular endothelial growth factor – фактор роста сосудистого эндотелия; PI3K, phosphoinositide 3-kinase – фосфоинозитид-3-киназа; ЛПС – липополисахарид; DAG – диацилглицерин.

* Эл. почта: gskrasnov@mail.ru

cells. By the way, this leads to decrease of secretion of stimulatory cytokines (e.g. IL-12) and increase of inhibitory, anti-inflammatory ones (e.g. IL-10). One of the receptor tyrosine kinases inducing signal in these pathways acts as the primary target of ISD while other key regulators – cAMP and diacylglycerol (DAG), act as secondary messengers of signal transduction. Immunosuppressive-like domains can be found not only in retroviruses; the presence of ISD within Ebola viral envelope glycoproteins caused extremely hard clinical course of virus-induced hemorrhagic fever. A number of retroviral-origin fragments encoding ISD can be found in the human genome. These regions are expressed in the placenta within genes of syncytins providing a tolerance of mother's immune system to an embryo. The present review is devoted to molecular aspects of retroviral ISD-induced modulation of host immune system.

Keywords: immune suppression, immunosuppressive domains, envelope glycoproteins, CKS-17, Ras-Raf-MEK-MAPK pathway, PI3K-AKT-mTOR pathway.

DOI: 10.7868/S0026898413050029

ВВЕДЕНИЕ

Иммуносупрессорные (ИС) свойства поверхностных белков р15Е трех известных онкогенных вирусов – вирусов лейкоза мышей Френда, Молони и Раушера – обнаружили еще в 1980 году. Оказалось, что у мышей, которым вводили вирусные экстракты, содержащие р15Е, в места воспалительной реакции замедленного типа, существенно снижалось накопление макрофагов [1]. Позднее, в 1985 году, идентифицировали высококонсервативный фрагмент этого белка, состоящий из 17 аминокислотных остатков (CKS-17), который непосредственно отвечает за ИС-свойства, проявляемые р15Е [2].

Начиная с этого времени, число публикаций, посвященных изучению ИС-свойств ретровирусов, постоянно росло, достигнув своего апогея к концу 90-х гг. В 1992—1993 гг. в поверхностных гликопротеинах вирусов Эбола и Марбург нашей рабочей группой был обнаружен ИС-домен, обладающий высокой гомологией с соответствующими участками в белках онкогенных ретровирусов [3, 4]. Способность эффективно подавлять иммунный ответ считается одной из причин крайне высокой патогенности этих возбудителей.

Среди всех ИС-доменов ретровирусных белков наиболее распространен именно вариант CKS-17 (LQNRRLDLLFLKEGGL). Этот мотив строго консервативен в поверхностных гликопротеинах группы вирусов лейкоза мышей Гросса, Молони и Френда (Gross leukemia virus, GLV, Moloney leukemia virus, MoLV, Friend leukemia virus, FLV), а также ряда других. У вируса лейкоза крупного рогатого скота, вируса обезьян Мезона–Пфайзера, вируса, ассоциированного с ретикулоэндотелиозом, и других вирусов ИС-участки сходны с CKS-17, но имеют отличия. Трехмерная конформация этой важной ИС-области представлена антипараллельными α -спиралями, организованными в структуру “намотанной катушки” (coiled coil) [5]. В настоящее время изучаются как возможности клинического применения ИС-до-

менов в медицине [6], так и их роль в развитии ряда заболеваний, включая рассеянный склероз [7, 8].

МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИС-ДОМЕНОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ

Характер воздействия коротких ИС-доменов на иммунную систему, в частности, на цитокиновую регуляцию и сигнальные пути, невероятно многогранен [9]. Изучению этих механизмов посвящено значительное число работ. Можно отметить, что ретровирусные ИС-домены ингибируют функции хозяйских естественных киллерных клеток (NK), макрофагов (в том числе продукцию моноцитами активных форм кислорода), цитотоксических Т-лимфоцитов, тормозят их пролиферацию, снижают продукцию IgG и подавляют экспрессию генов, индуцируемую интерферон-регулирующим фактором IRF-1 [2, 10–13]. С другой стороны, нельзя сказать, что воздействие ИС-пептидов носит некий неспецифичный характер. Так, в этих же работах [2, 9, 12, 13] показано, что ИС-домены не влияют на интенсивность пролиферации фибробластов и секрецию лизосомных ферментов моноцитами, на активность фагоцитоза моноцитами, выживаемость и пролиферацию В-лимфоцитов, экспрессию клеточных генов, активируемую фактором IRF-2.

Основной результат воздействия ИС-пептида CKS-17 на иммунную систему человека – активация экспрессии гена интерлейкина 10 (IL-10) и подавление секреции IL-12 иммунокомпетентными клетками [14]. В свою очередь, IL-10 ингибирует активность Т-хелперных лимфоцитов и подавляет синтез ими γ -интерферона наряду с IL-2. IL-12, напротив, выполняет самые различные стимулирующие функции – он способствует росту и дифференцировке Т-лимфоцитов, активации В-лимфоцитов, дендритных клеток, секреции γ -интерферона, а также проявлению цитотоксической активности NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Изменения в секреции IL обусловлены воздействием ИС-пептидов на внутриклеточные

сигнальные пути. Во-первых, SKS-17 стимулирует синтез сАМР, влияя на активность аденилатциклазы, осуществляющей превращение АТФ в сАМР [15]. Повышение уровня внутриклеточного сАМР приводит, в свою очередь, к угнетению продукции ряда цитокинов. Однако SKS-17 далеко не всегда способен активировать синтез сАМР — на клеточных линиях U939 и Jurkat такой взаимосвязи не выявлено [9, 15]. Как будет показано ниже, это связано с дефектом в гене *САР*, кодирующем белок, ассоциированный с аденилатциклазой. Во-вторых, SKS-17 способен индуцировать фосфорилирование целого ряда клеточных регуляторных элементов — PLC γ , MEK, ERK1/2, а также протеинкиназ (PK) C и D1, участвующих в регуляции трансдукции сигнала по путям Ras-Raf-MEK-MAPK и PI3K-AKT-mTOR [9, 16, 17].

Регуляция трансдукции сигнала по пути Ras-Raf-MEK-MAPK

Сигнальный путь Ras-Raf-MEK-MAPK, также известный как MAPK/ERK, — один из главных элементов управления поведением клеток. Белки Raf-1, MEK1 и 2, ERK1 и 2 (MAPK1 и 3) наряду с Ras образуют каскад, отвечающий за проведение в ядро сигнала, который поступает на ряд ключевых рецепторов и контролирует тем самым пролиферацию клеток и их апоптоз [18].

Первый элемент этого каскада — белок Ras, или так называемый малый G-белок (малая GTPаза). Этот белок участвует в трансдукции сигнала непосредственно от мембранных рецепторов (например, при взаимодействии эпидермального фактора роста (EGF) с его рецептором (EGFR)). Связанные с GTP белки Ras находятся в активном состоянии, тогда как последующий гидролиз GTP до GDP приводит к инактивации Ras [19]. К семейству Ras относится и известный протоонкоген K-Ras. Установлено, что в опухолях с высокой частотой возникают мутации, лишаящие этот белок гидролазной активности и вызывающие, в свою очередь, его постоянную активацию [20]. Активированный Ras способен индуцировать серин/треониновую протеинкиназу Raf-1, которая также обладает протоонкогенными свойствами [21]. В свою очередь, Raf-1 путем фосфорилирования активирует серин/треониновые протеинкиназы MEK1/2, мишенью которых служат, наконец, ERK1/2 (MAPK).

MAPK считается ключевым регулятором поведения клеток, он контролирует активность многих факторов транскрипции, включая белок с-Мус. MAPK также фосфорилирует киназу MNK, которая активирует белок CREB. Фактор транскрипции CREB можно перевести в активное состояние при увеличении уровня внутриклеточного сАМР при помощи PKA (рисунок). Конечные мишени MAPK, с-Мус и CREB — белки, участвующие

в прогрессии клеточного цикла, в дифференцировке и других клеточных процессах.

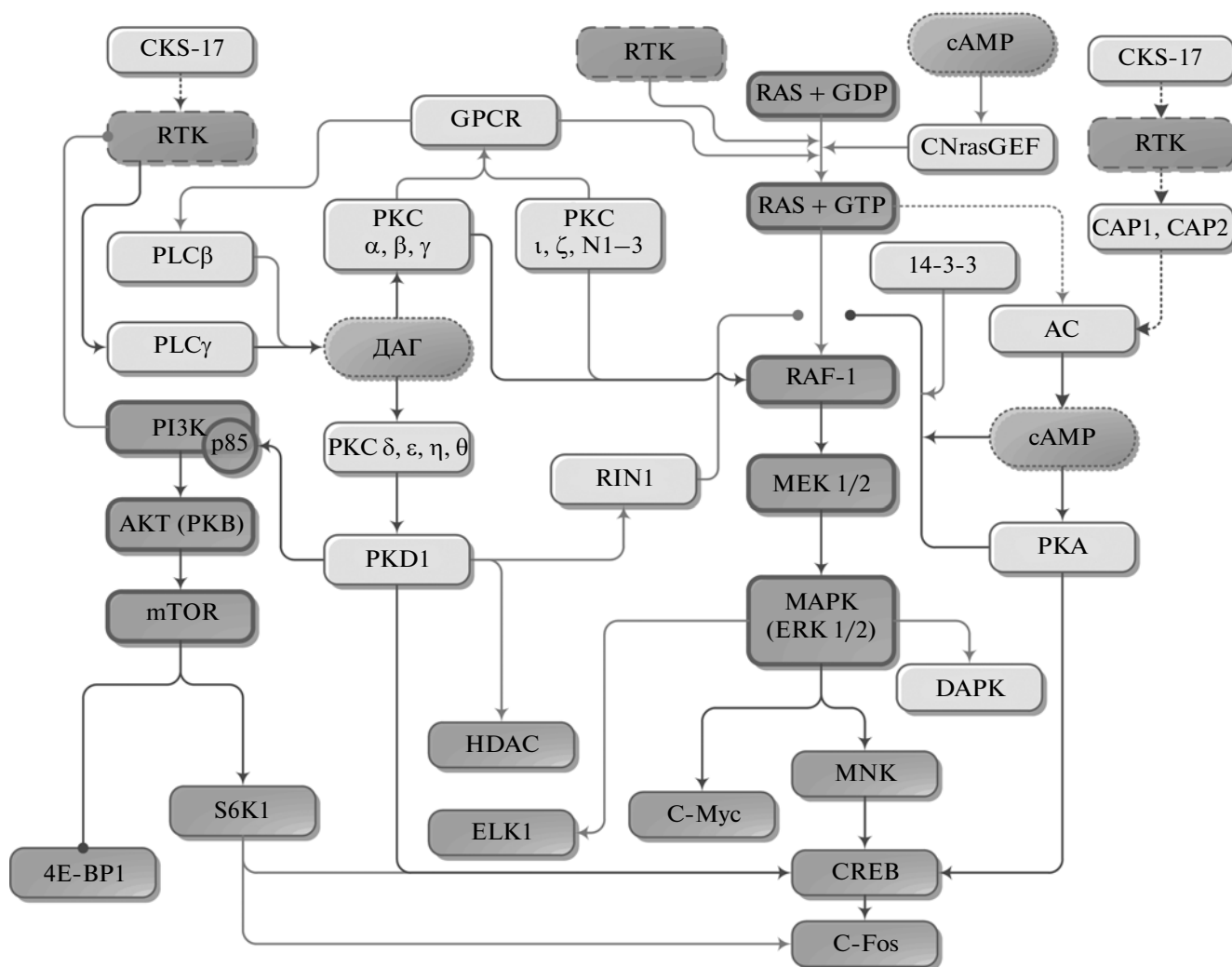
Влияние уровня сАМР на активность сигнального пути Ras-Raf-MEK-MAPK

Другой механизм, приводящий к индукции сигнала по пути Ras-Raf-MEK-MAPK, заключается в активации Ras фактором обмена гуаниннуклеотидов — мультидоменным белком CNras-GEF, который присоединяет GTP к киназе Ras, что переводит Ras в активную форму. В свою очередь, активность CNrasGEF контролируется непосредственно сАМР [22, 23]. Таким образом, эта ветвь регуляции прямо связывает сигнальный путь Ras-Raf-MEK-MAPK с уровнем сАМР в клетке.

Однако влияние сАМР на этот путь не столь однозначно. Ранее показали, что сАМР может как тормозить пролиферацию клеток одного типа, так и стимулировать ее в клетках других типов [21]. За этим стоит способность сАМР препятствовать посредством PKA связыванию первого и второго элементов каскада — Ras и Raf-1. Взаимодействие сАМР с комплексом PKA-Raf-1 приводит к фосфорилированию трех остатков серина в молекуле Raf-1, что, в свою очередь, способствует формированию комплекса Raf-1 с белком 14-3-3. В составе этого комплекса Raf-1 не способен более связываться со своим активатором, белком Ras [24] (рисунок).

Именно этим объясняются особенности кинетики влияния ИС-пептидов на уровень активных форм MEK и MAPK в клетке, обнаруженные ранее в линии моноцитов человека THP-1 [25]. Введение SKS-17 в культуру клеток вызывает резкое повышение уровня фосфорилированных MEK и ERK (pMEK и pERK). На фоне роста цитоплазматического сАМР это повышение сменяется столь же быстрым падением, за которым следует уже новая волна повышения содержания pMEK и pERK [25]. Однако в клетках U939 и Jurkat, синтез сАМР в которых не усиливается в ответ на ИС-пептид SKS-17, подобное снижение уровня pMEK и pERK после первичного повышения не зарегистрировано.

Сразу несколько групп исследователей показали, что повышение уровня цитоплазматического сАМР ведет к подавлению экспрессии генов *IL-2* и *IL-12*, γ -интерферона, фактора некроза опухоли α (TNF α), увеличению интенсивности синтеза *IL-4*, *-5*, *-6*, *-10*, а также к другим изменениям [26–32]. Установлено также, что активация сигнального пути Ras-Raf-MEK-MAPK в Т-хелперных лимфоцитах может привести к противоположным результатам — ингибированию дифференцировки Th1-клеток и ее стимуляции в Th2-клетках [33–36]. Аналогичные изменения в характере иммунной регуляции отмечены при введении SKS-17



Упрощенная схема клеточных сигнальных путей, активируемых ИС-пептидами СКС-17. Непосредственные мишени ИС-пептидов – рецепторные тирозинкиназы (RTK) (обозначены серым цветом с рамками крупным пунктиром) – вызывают индукцию сигнала по путям PI3K-АКТ-mTOR и Ras-Raf-MEK-MAPK (основные элементы каскадов обозначены серым с толстой рамкой), в результате чего активируется ряд факторов транскрипции, часть из которых представлена на рисунке (серый, тонкая рамка). Темными линиями отмечены взаимодействия, определяющие характер иммунной модуляции, осуществляемой ИС-пептидами. Светлыми линиями обозначены пути, играющие, по-видимому, второстепенную роль. Пунктиром обозначены предполагаемые взаимодействия. Рамками с мелким пунктиром показаны cAMP и диацилглицерин (ДАГ), основные вторичные посредники в пути передачи сигнала, индуцируемого ИС-пептидами. АС – аденилатциклаза. Остальные сокращения см. в Принятых сокращениях.

в культуре клеток, что еще раз указывает на участие СКС-17 в этих сигнальных путях [9].

В дальнейшем удалось обозначить наиболее вероятную мишень СКС-17 – белок CAP [9]. Введение ИС-пептидов в клеточную культуру приводит, по-видимому, к гиперактивации белка CAP. На клетках *Saccharomyces cerevisiae* показано, что CAP совместно с Ras опосредует активацию аденилатциклазы (ADCY). При этом в результате первичного взаимодействия CAP и аденилатциклазы в ферменте формируется сайт посадки Ras, модифицированного фарнезилтрансферазой [37]. Дальнейшее взаимодействие с Ras приводит к ак-

тивации аденилатциклазы и увеличению интенсивности синтеза регуляторных молекул cAMP из АТФ. CAP – один из самых консервативных эукариотических белков, поэтому можно говорить о применимости результатов, полученных на *S. cerevisiae* и *Dictyostelium discoideum* [38], к человеку.

PKD как мишень ИС-пептидов. Регуляция клеточного пути PI3K-АКТ-mTOR

Другие элементы механизмов, на которые воздействуют ИС-пептиды – протеинкиназы PKC и PKD1. Введение СКС-17 в клеточные культуры

приводит к активации этих регуляторных белков путем фосфорилирования [9, 17]. Серин/треониновая киназа PKD1 активируется, как правило, при клеточном стрессе. Она играет важную роль в самых различных процессах — от контроля пролиферации и апоптоза до регуляции адгезии и подвижности клеток [39]. Особенность PKD1 заключается в ее способности участвовать в различных сигнальных путях в зависимости от того, какие именно модификации она содержит. Это может быть связано как с изменением субстратной специфичности PKD1 при различных вариантах ее аллостерической регуляции, так и с транслокацией в различные клеточные компартменты.

Так, например, в условиях окислительного стресса PKD1 фосфорилируется тирозинкиназами c-Abl и Src по положениям Tyr463 и Tyr95. При этом становится доступным сайт связывания PKD1 с протеинкиназой PKC δ , которая фосфорилирует Ser738 и Ser742 в PKD1 [40]. Модифицированная таким образом PKD1 перемещается в митохондрии, где активирует сигнальный путь NF- κ B, что, в свою очередь, ведет к индукции экспрессии антиапоптотических генов и синтеза белков, понижающих содержание активных форм кислорода в клетке [39, 41].

Однако в случае активации PKD1 рецепторами, сопряженными с G-белками (GPCR), и рецепторными тирозинкиназами (RTK) фосфорилированию подвергаются остатки Ser910, а также Ser738 и Ser742 в PKD1. В этом процессе прямо участвует PKC, а именно, так называемые ее “новые” изоформы δ , ϵ , η , θ . Модифицированная таким образом PKD1 приобретает способность активировать многочисленные регуляторные белки, в том числе CREB, c-Jun, RIN1, гистондеацетилазу HDAC, а также Bit1 — митохондриальный белок, способный индуцировать каспазозависимый апоптоз [42, 45]. Среди мишеней PKD1 следует отметить и p85 — регуляторную субъединицу фосфоинозитид-3-киназы (PI3K, рисунок) [46]. PI3K, фосфорилированная PKD1, теряет способность связываться с RTK, что неизбежно приводит к инактивации RTK. В результате инактивированная RTK не может осуществлять положительную регуляцию PLC γ , вовлеченной в синтез диацилглицерина (ДАГ). Нельзя не отметить, что интерферон α , напротив, способствует активации субъединицы p85 [47]. ДАГ (наряду с cAMP) — важнейшая регуляторная молекула, которая служит вторичным посредником при передаче сигнала и способна активировать PKD и PKC [48, 49]. В результате этих взаимодействий образуется регуляторная петля ДАГ-PKD1-PI3K-RTK-PLC γ -ДАГ (рисунок).

PI3K представляет собой важное звено сигнального пути PI3K-Akt-mTOR, отвечающего за регуляцию апоптоза и пролиферации и играющего значительную, но весьма неоднозначную,

роль в иммунной регуляции [50]. В частности, PI3K и mTOR способны сдерживать активацию миелогенных дендритных клеток, стимулируя синтез противовоспалительного IL-10 и подавляя ряд стимуляторных цитокинов [50–53]. Кратко описать этот сигнальный путь можно следующим образом. PI3K отвечает за фосфорилирование фосфатидилинозитолбисфосфата (PIP2) до фосфатидилинозитолтрифосфата (PIP3). В свою очередь, PIP3 необходим для активации PKB протеинкиназой AKT. Конечная мишень AKT — ключевой элемент mTOR, отвечающий за ингибирование (путем фосфорилирования) репрессора трансляции мРНК 4E-BP1, связывающего фактор инициации трансляции 4E. Другая мишень mTOR — рибосомная киназа S6K1 — участвует в регуляции активности не только рибосомы, но и многих факторов транскрипции: c-Fos, NF- κ B, CREB, GSK и др. [50, 54].

Еще одна прямая мишень PKD1 — белок RIN1 (Ras и Rab interactor 1) [44, 45]. PKD1 фосфорилирует RIN1 *in vivo*, главным образом, по Ser292 [44]. RIN1 способен конкурировать с Raf-1 за связывание с активированным Ras (в составе комплекса с GTP), предотвращая дальнейшее взаимодействие Ras с Raf-1 (рисунок) [55]. В результате приостанавливается трансдукция сигнала по пути Ras-Raf-MEK-МАРК. RIN1 способен замедлять онкотрансформацию клеток, вызванную мутацией в белке Ras, которая приводит к его перманентной активации [55]. Более того, оказалось, что в миелогенных клеточных линиях HL-60 и K562 повышенная экспрессия RIN1 также приводит к торможению или остановке трансдукции сигнала от рецепторов IL-3 в ядро, в то время как при инактивации RIN1 с помощью антисмысловых РНК увеличивается скорость клеточной пролиферации [56]. Таким образом, это подчеркивает неоднозначную роль PKD в регуляции одного из основных клеточных путей, индуцируемых внешним сигналом, Ras-Raf-MEK-МАРК.

Фосфорилирование PKD1 происходит за счет активации PKC

Дальнейшее изучение механизмов действия SKS-17 показало, что PKD1 не является первичной мишенью ИС-пептидов. При введении SKS-17 фосфорилированию подвергается целый ряд регуляторных белков, включая PKD1 и различные изоформы PKC [9]. На этом фоне введение избирательных ингибиторов PKC сводит к нулю эффект SKS-17, а именно, увеличение уровня активных форм PKD1, MEK и MAPK [16, 17]. Использование клеток Jurkat с нефункциональным геном белка CAP позволяет исключить влияние повышения уровня cAMP на изменение содержания активных форм PKD1, MEK и MAPK.

Таким образом, эти работы дали основание считать, что в результате индукции сигнала ИС-пептидами сначала активируется РКС и лишь затем, как следствие этого, PKD1.

Всего известно 15 различных РКС, которые принято делить на три класса – так называемые “традиционные” РКС (α , β , γ), для активации которых необходим высокий уровень как внутриклеточного кальция, так и ДАГ; “новые” формы (δ , $\delta 1$ – $\delta 3$, ϵ , η , θ), для активации которых требуется только высокое содержание ДАГ; и атипичные формы (ι , ζ , N1–N3), активация которых не зависит от концентрации ДАГ и Ca^{2+} внутри клетки. При этом активация PKD1 происходит с участием “новых” форм РКС (δ , ϵ , η , θ) [39].

Среди мишеней РКС можно отметить Raf-1, второй элемент в каскаде Ras-Raf-МЕК-МАРК. “Традиционные” Ca^{2+} , ДАГ-зависимые, а также атипичные формы РКС способны фосфорилировать Raf-1 по положению Ser153, что приводит к диссоциации комплекса Raf-1 с ингибиторным белком RKIP (Ras kinase inhibitory protein) и открывает возможность для дальнейшего участия Raf-1 в сигнальном каскаде [57]. Однако освобожденный при этом RKIP взаимодействует с киназой GRK-2, ингибитором GPCR – фактических инициаторов сигнального пути Ras-Raf-МЕК-МАРК [58]. Можно и дальше описывать разнообразие сигнальных путей, активируемых РКС, и спектр ее мишеней – NF- κ B, MLCP, GSK3 β и др. [59], однако, в целом, механизм воздействия РКС на сигнальный путь Ras-Raf-МЕК-МАРК также можно считать неоднозначным, как и в случае PKD1 (рисунок).

Повышение уровня диацилглицерина, опосредованное активацией PLC γ -1, индуцирует РКС. Возможные прямые мишени SKS-17

В 2005 году удалось идентифицировать один из первых компонентов каскада, прохождение сигнала по которому инициируется SKS-17 [9, 16]. Этим элементом оказалась фосфолипаза PLC γ -1, осуществляющая синтез ДАГ из сложных липидов, содержащих остаток фосфорной кислоты. Введение ИС-пептида в клетки Jurkat (с нефункциональным SAR), в которых отсутствует ген PLC γ -1, не привело к увеличению уровня фосфорилированных Raf-1, МЕК и МАРК, в то время как в клетках Jurkat с полностью функциональным геном PLC γ -1 повышалось содержание активных форм этих белков [16].

Однако в дальнейшем была выявлена “выше лежащая” мишень SKS-17. Регуляция PLC γ осуществляется как рецепторными (VEGFR, рецептор фактора роста сосудистого эндотелия) [60], так и нерепепторными тирозинкиназами, напри-

мер, тирозинкиназой Брутона, играющей важную роль в созревании и функционировании В-лимфоцитов и других клеток крови млекопитающих [61]. В связи с этим была предпринята попытка идентифицировать RTK, способные передавать сигнал непосредственно от SKS-17 [9]. В серии опытов оценили влияние различных ингибиторов RTK на индукцию изменений уровня активных форм МЕК и МАРК ИС-пептидами. Удалось определить, что при обработке клеток тирфостином (tyrphostin) AG879 эффект от применения ИС-пептидов сводится к нулю – не наблюдается повышения уровня фосфорилированных форм МЕК и МАРК [9]. Тирфостин AG897 ингибирует нейротропную тирозинкиназу TrkA (NTRK1), а также рецепторы EGF и VEGF – HER2 (ERBB2) и FLK-1 (KDR) соответственно. В настоящий момент достаточно сложно определить, какая именно RTK служит непосредственной мишенью ИС-пептидов, однако стоит отметить, что ни VEGF, ни фактор роста нервов (NGF), активирующий TrkA, не обладают сколь угодно малой гомологией на уровне аминокислотных последовательностей с SKS-17 [9]. Достаточно сходные мотивы (с учетом (не)полярности, (не)заряженности аминокислотных остатков) отмечены лишь у SKS-17 и предшественника EGF: LQNRG/ISQPRG, LDLL/LDIL, FLKEGGLC/FAGDGKLC. Следует также отметить, что ИС-домен содержит последовательность RGLD, схожую с мотивом RGD, опознаваемым интегринами – мембранными рецепторами, осуществляющими трансдукцию различных сигналов из внеклеточного матрикса [62, 63]. В связи с этим очевидно, что для решения данного вопроса необходимо проведение дополнительных исследований.

Завершая описание сигнальных путей, индуцируемых ретровирусными ИС-пептидами и доменами, следует отметить их сложность и многообразие, выделить ряд основных механизмов воздействия. Во-первых, на роль этих механизмов претендует взаимодействие ИС-домена с RTK и дальнейшая активация PLC γ -1, отвечающей за синтез ДАГ. Повышение уровня ДАГ ведет, в свою очередь, к скачку активности РКС, участвующей в индукции сигнала по пути Ras-Raf-МЕК-МАРК, а также PKD, отвечающей, наряду с РКС, за фосфорилирование целого ряда важных факторов транскрипции. С другой стороны, в результате активации PKD1 индуцируется прохождение сигнала по пути PI3K-Akt-mTOR. Во-вторых, повышение уровня cAMP в клетке, опосредованное воздействием ИС-пептида на белок SAR (однако механизмы, стоящие за активацией SAR ИС-пептидами, не ясны), приводит как к задержке прохождения сигнала по пути Ras-Raf-МЕК-МАРК под

действием РКА и белка 14-3-3, так и к его индукции, в которой свою роль играет белок CNrasGEF (рисунок). Возможно, в дальнейшем удастся связать активацию CAP с индукцией сигнала от мембранных RTK.

Безусловно, такой характер регуляции клеточных сигнальных путей показан лишь для SKS-17. Однако оснований полагать, что механизм действия вирусных ИС-доменов с отличной от SKS-17 аминокислотной последовательностью, например, у вирусов лейкоза крупного рогатого скота, вируса обезьян Мезона-Пфайзера, вируса, ассоциированного с ретикулоэндотелиозом, будет иным, чем у SKS-17, достаточно мало.

В заключение необходимо заметить, что важную роль играет и локализация протеинкиназ ERK1/2, активируемых MEK1/2. Так ERK, находясь в цитоплазме, не может активировать факторы транскрипции, ответственные за пролиферацию и дифференцировку клеток. Напротив, ERK способствует активации некоторых цитоплазматических проапоптотических белков, что может иметь противоположные последствия [18, 64, 65].

РЕТРОВИРУСНЫЕ ИС-ДОМЕНЫ В ПРОТЕОМЕ ЧЕЛОВЕКА

В геноме человека картировано множество элементов ретровирусного происхождения. Ряд из них сохраняет способность к экспрессии и выполняет важные функции в развитии организма. В число таких элементов входят гены синцитинов (*ERVW-1* и *ERVFRD-1*), экспрессия которых наблюдается в основном в тканях плаценты [66]. Синцитины, обладающие высокой гомологией с поверхностными гликопротеинами ретровирусов, играют двойную роль. Во-первых, они обуславливают способность трофобластов плаценты к агрегации и последующему слиянию при формировании синцитиотрофобластного слоя [67]. Во-вторых, синцитины призваны обеспечить неприкосновенность плаценты и эмбриона со стороны иммунной системы матери [68]. Оба синцитина (1 и 2) содержат ИС-домен, обладающий высокой степенью гомологии с SKS-17.

В 2007 году обнаружили, что основной вклад в формирование иммунной толерантности к эмбриону вносит синцитин 2, в то время как у синцитина 1 иммуномодуляторные функции не обнаружены [69]. Аллогенные клетки, экспонирующие на своей поверхности синцитин 2, вызывали несравненно меньший иммунный ответ, нежели клетки, экспонирующие синцитин 1. Показано, что важную роль играет фрагмент синцитина 2, расположенный за С-концом участка, соответствующего SKS-17, а именно петля, образуемая аминокислотными остатками Gln14 и Ala20 (ну-

мерация относительно N-конца участка, соответствующего SKS-17). Для формирования этой петли необходимо, по-видимому, образование дисульфидной связи между Cys19 и Cys25 [70]. При этом мутации в синцитине 1, вызывающие замены Arg14 > Gln и Phe20 > Ala, возвращали белку ИС-свойства.

Однако в дальнейшем установили, что синцитин 1 также выполняет не только функцию слияния трофобластов. Синцитин 1, секретируемый тканями плаценты в составе экзосом и микровезикул в кровотоке под действием кортиколиберина, выполняет иммуномодуляторные функции в организме матери.

На модели мононуклеарных клеток периферической крови недавно показали, что как рекомбинантный синцитин 1, так и его ИС-домен ингибируют синтез ряда сигнальных белков – интерферона γ , TNF α , а также хемокина CXCL10, секреция которых активируется в ответ на введение фитогемагглютина или липополисахаридов (ЛПС) [71]. С другой стороны, рекомбинантный синцитин 1, а также микровезикулы и экзосомы, содержащие синцитин, способны не только снижать интенсивность иммунного ответа на введение ЛПС, что выражается в подавлении секреции мононуклеарными клетками IL-1 β , IL-6, IL-17 и др., но и стимулировать иммунный ответ в отсутствие ЛПС, фитогемагглютина или других аллогенов, а именно, вызывать повышение – пусть не столь значительное, как после введения ЛПС, – уровня различных цитокинов (IL-1, IL-6 и др.) [72–74]. Тем не менее, нельзя не отметить, что синцитин 1 не вызывает характерного для SKS-17 повышения уровня ингибиторного IL-10 и снижения уровня иммуностимулирующего IL-12 [72].

Таким образом, можно сделать вывод, что ИС-функции синцитинов могут быть отделены как от функций слияния, так и от иммуностимулирующих свойств. В то же время, характер иммунной модуляции, осуществляемой ретровирусными ИС-доменами, может отличаться от паттерна изменений, вызываемых пептидами SKS-17.

ИС-пептиды способны проявлять свою супрессорную активность лишь в виде димера – пептиды SKS-17 должны образовать структуру типа “намотанной катушки” и, в частности, так называемую лейциновую застежку [9, 71], характерную, помимо прочего, для различных ДНК-связывающих факторов транскрипции. Изучение влияния как рекомбинантного синцитина 1, так и ИС-пептидов, идентичных ИС-домену синцитина 1, показало, что для проявления своих ИС-свойств не только ИС-пептиды, но и эктодомены рекомбинантного синцитина должны находиться в форме димеров или мультимеров [71]. Возможно, именно этим и объясняется отсут-

ствии иммунорегуляторных свойств у рекомбинантного синцитина 1, описанное ранее [69].

В геноме человека могут транскрибироваться не только гены синцитинов, но и множество других участков ретровирусного происхождения [75, 76]. Эти элементы могут играть далеко не последнюю роль в нормальном развитии и существовании организма человека. В их число могут входить различные участки, потенциально выполняющие ИС-функции. Дальнейшие исследования помогут установить возможную роль таких участков в процессах иммунной регуляции.

К сожалению, до сих пор отсутствуют данные о взаимодействии ИС-доменов различных ретровирусов и синцитинов с регуляторными Т-клетками (Treg). Однако изучение этих взаимодействий может открыть новые направления терапии вирусных заболеваний или позволит создать новые избирательные иммуносупрессоры, которые могут найти применение в трансплантологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение отметим, что механизм иммунной супрессии, проявляемой ИС-доменами поверхностных белков ретровирусов, не является универсальным. ИС-свойства вируса Эбола обусловлены не только структурой его поверхностного гликопротеина. Внутренний белок нуклеокапсида VP35 также обладает ИС-активностью, хотя и отличной от активности внешнего гликопротеина: VP35 способен блокировать фосфорилирование IRF-3, активируемого в ответ на внедрение вируса [77]. ИС-свойствами могут обладать не только вирусы. Например, выраженной ИС-активностью обладает пептид Vm24 (36 аминокислотных остатков), содержащийся в яде скорпиона *Vaejovis mexicanus smithi*, в состав которого помимо ИС-компонента входят еще около 200 различных белков. Vm24 блокирует потенциал-зависимый калиевый канал $K_v1.3$ (KCNA3) на мембране Т-лимфоцитов, что приводит к остановке их пролиферации и Ca^{2+} -опосредованной трансдукции сигнала [78].

К сожалению, невозможно в рамках одного обзора описать всю сложность и многообразие клеточных механизмов и сигнальных путей, используемых ретровирусными иммуносупрессорами. Многочисленные исследования позволили обозначить основные механизмы такой иммунной модуляции, однако необходимо понять многие аспекты этого явления и, в первую очередь, осуществить поиск непосредственной мишени ИС-доменов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cianciolo G.J., Matthews T.J., Bolognesi D.P., Snyderman R. 1980. Macrophage accumulation in mice is inhibited by low molecular weight products from murine leukemia viruses. *J. Immunol.* **124**(6), 2900–2905.
- Cianciolo G.J., Copeland T.D., Oroszlan S., Snyderman R. 1985. Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope proteins. *Science.* **230**(4724), 453–455.
- Volchkov V.E., Blinov V.M., Netesov S.V. 1992. The envelope glycoprotein of Ebola virus contains an immunosuppressive-like domain similar to oncogenic retroviruses. *FEBS Lett.* **305**(3), 181–184.
- Bukreyev A., Volchkov V.E., Blinov V.M., Netesov S.V. 1993. The GP-protein of Marburg virus contains the region similar to the ‘immunosuppressive domain’ of oncogenic retrovirus P15E proteins. *FEBS Lett.* **323**(1–2), 183–187.
- Fass D., Harrison S.C., Kim P.S. 1996. Retrovirus envelope domain at 1.7 angstrom resolution. *Nat. Struct. Biol.* **3**(5), 465–469.
- Cianciolo G.J., Pizzo S.V. 2012. Anti-inflammatory and vasoprotective activity of a retroviral-derived peptide, homologous to human endogenous retroviruses: endothelial cell effects. *PLoS One.* **7**(12), e52693.
- Garcia-Montojo M., Dominguez-Mozo M., Arias-Leal A., et al. 2013. The DNA copy number of human endogenous retrovirus-W (MSRV-Type) is increased in multiple sclerosis patients and is influenced by gender and disease severity. *PLoS One.* **8**(1), e53623.
- Antony J.M., Ellestad K.K., Hammond R., et al. 2007. The human endogenous retrovirus envelope glycoprotein, syncytin-1, regulates neuroinflammation and its receptor expression in multiple sclerosis: a role for endoplasmic reticulum chaperones in astrocytes. *J. Immunol.* **179**(2), 1210–1224.
- Haraguchi S., Good R.A., Day-Good N.K. 2008. A potent immunosuppressive retroviral peptide: cytokine patterns and signaling pathways. *Immunol. Res.* **41**(1), 46–55.
- Ogasawara M., Haraguchi S., Cianciolo G.J., et al. 1990. Inhibition of murine cytotoxic T lymphocyte activity by a synthetic retroviral peptide and abrogation of this activity by IL. *J. Immunol.* **145**(2), 456–462.
- Harris D.T., Cianciolo G.J., Snyderman R., et al. 1987. Inhibition of human natural killer cell activity by a synthetic peptide homologous to a conserved region in the retroviral protein, p15E. *J. Immunol.* **138**(3), 889–894.
- Mitani M., Cianciolo G.J., Snyderman R., et al. 1987. Suppressive effect on polyclonal B-cell activation of a synthetic peptide homologous to a transmembrane component of oncogenic retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**(1), 237–240.
- Harrell R.A., Cianciolo G.J., Copeland T.D., et al. 1986. Suppression of the respiratory burst of human monocytes by a synthetic peptide homologous to envelope proteins of human and animal retroviruses. *J. Immunol.* **136**(10), 3517–3520.
- Haraguchi S., Good R.A., James-Yarish M., et al. 1995. Differential modulation of Th1- and Th2-related cytokine mRNA expression by a synthetic peptide homologous to a conserved domain within retroviral envelope protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**(8), 3611–3615.
- Haraguchi S., Good R.A., James-Yarish M., et al. 1995. Induction of intracellular cAMP by a synthetic retroviral envelope peptide: a possible mechanism of immunopathogenesis in retroviral infections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**(12), 5568–5571.

16. Fan T., Day N.K., Luangwedchakarn V., et al. 2005. The phosphorylation of phospholipase C- γ 1, Raf-1, MEK, and ERK1/2 induced by a conserved retroviral peptide. *Peptides*. **26**(11), 2165–2174.
17. Luangwedchakarn V., Day N.K., Hitchcock R., et al. 2003. A retroviral-derived peptide phosphorylates protein kinase D/protein kinase C μ involving phospholipase C and protein kinase C. *Peptides*. **24**(5), 631–637.
18. Mebratu Y., Tesfaigzi Y. 2009. How ERK1/2 activation controls cell proliferation and cell death: is subcellular localization the answer? *Cell Cycle*. **8**(8), 1168–1175.
19. Johnson D.S., Chen Y.H. 2012. Ras family of small GTPases in immunity and inflammation. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**(4), 458–463.
20. Friday B.B., Adjei A.A. 2005. K-ras as a target for cancer therapy. *Biochim. Biophys. Acta*. **1756**(2), 127–144.
21. Dumaz N., Marais R. 2005. Integrating signals between cAMP and the RAS/RAF/MEK/ERK signalling pathways. Based on the anniversary prize of the Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie Lecture delivered on 5 July 2003 at the Special FEBS Meeting in Brussels. *FEBS J.* **272**(14), 3491–504.
22. Pak Y., Pham N., Rotin D. 2002. Direct binding of the beta1 adrenergic receptor to the cyclic AMP-dependent guanine nucleotide exchange factor CNrasGEF leads to Ras activation. *Mol. Cell Biol.* **22**(22), 7942–7952.
23. Pham N., Cheglakov I., Koch C.A., et al. 2000. The guanine nucleotide exchange factor CNrasGEF activates Ras in response to cAMP and cGMP. *Curr. Biol.* **10**(9), 555–558.
24. Dumaz N., Marais R. 2003. Protein kinase A blocks Raf-1 activity by stimulating 14-3-3 binding and blocking Raf-1 interaction with Ras. *J. Biol. Chem.* **278**(32), 29819–29823.
25. Takahashi A., Day N.K., Luangwedchakarn V., et al. 2001. A retroviral-derived immunosuppressive peptide activates mitogen-activated protein kinases. *J. Immunol.* **166**(11), 6771–6775.
26. Haraguchi S., Good R.A., Day N.K. 1995. Immunosuppressive retroviral peptides: cAMP and cytokine patterns. *Immunol. Today*. **16**(12), 595–603.
27. Haraguchi S., Good R.A., Cianciolo G.J., et al. 1997. Immunosuppressive retroviral peptides: immunopathological implications for immunosuppressive influences of retroviral infections. *J. Leukoc. Biol.* **61**(6), 654–666.
28. Rauen T., Hedrich C.M., Juang Y.T., et al. 2011. cAMP-responsive element modulator (CREM) α protein induces interleukin 17A expression and mediates epigenetic alterations at the interleukin-17A gene locus in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Biol. Chem.* **286**(50), 43437–43446.
29. Hedrich C.M., Rauen T., Tsokos G.C. 2011. cAMP-responsive element modulator (CREM) α protein signaling mediates epigenetic remodeling of the human interleukin-2 gene: implications in systemic lupus erythematosus. *J. Biol. Chem.* **286**(50), 43429–43436.
30. Bonnelye E., Reboul P., Duval N., et al. 2011. Estrogen receptor-related receptor alpha regulation by interleukin-1 β in prostaglandin E(2)- and cAMP-dependent pathways in osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis Rheum.* **63**(8), 2374–2384.
31. Schneider C., Rath G.M., Delorme N., et al. 2005. Interleukin-1 β (IL-1 β) induces a crosstalk between cAMP and ceramide signaling pathways in thyroid epithelial cells. *Biochimie*. **87**(12), 1121–1126.
32. Torgersen K.M., Vang T., Abrahamsen H., et al. 2002. Molecular mechanisms for protein kinase A-mediated modulation of immune function. *Cell Signal*. **14**(1), 1–9.
33. Iborra S., Soto M., Stark-Aroeira L., et al. 2011. H-ras and N-ras are dispensable for T-cell development and activation but critical for protective Th1 immunity. *Blood*. **117**(19), 5102–5111.
34. Yamashita M., Shinnakasu R., Asou H., et al. 2005. Ras-ERK MAPK cascade regulates GATA3 stability and Th2 differentiation through ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.* **280**(33), 29409–29419.
35. Agrawal A., Dillon S., Denning T.L., Pulendran B. 2006. ERK1–/– mice exhibit Th1 cell polarization and increased susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* **176**(10), 5788–5796.
36. Agrawal S., Agrawal A., Doughty B., et al. 2003. Cutting edge: different Toll-like receptor agonists instruct dendritic cells to induce distinct Th responses via differential modulation of extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinase and c-Fos. *J. Immunol.* **171**(10), 4984–4989.
37. Shima F., Okada T., Kido M., Sen H., et al. 2000. Association of yeast adenylyl cyclase with cyclase-associated protein CAP forms a second Ras-binding site which mediates its Ras-dependent activation. *Mol. Cell Biol.* **20**(1), 26–33.
38. Mavoungou C., Israel L., Rehm T., et al. 2004. NMR structural characterization of the N-terminal domain of the adenylyl cyclase-associated protein (CAP) from *Dictyostelium discoideum*. *J. Biomol. NMR*. **29**(1), 73–84.
39. Steinberg S.F. 2012. Regulation of protein kinase D1 activity. *Mol. Pharmacol.* **81**(3), 284–291.
40. Doppler H., Storz P. 2007. A novel tyrosine phosphorylation site in protein kinase D contributes to oxidative stress-mediated activation. *J. Biol. Chem.* **282**(44), 31873–31881.
41. Storz P., Doppler H., Toker A. 2005. Protein kinase D mediates mitochondrion-to-nucleus signaling and detoxification from mitochondrial reactive oxygen species. *Mol. Cell Biol.* **25**(19), 8520–8530.
42. Biliran H., Jan Y., Chen R., et al. 2008. Protein kinase D is a positive regulator of Bit1 apoptotic function. *J. Biol. Chem.* **283**(42), 28029–28037.
43. Huynh Q.K., McKinsey T.A. 2006. Protein kinase D directly phosphorylates histone deacetylase 5 via a random sequential kinetic mechanism. *Arch. Biochem. Biophys.* **450**(2), 141–148.
44. Ziegler S., Eiseler T., Scholz R.P., et al. 2011. A novel protein kinase D phosphorylation site in the tumor suppressor Rab interactor 1 is critical for coordination of cell migration. *Mol. Biol. Cell*. **22**(5), 570–580.
45. Doppler H., Storz P., Li J., et al. 2005. A phosphorylation state-specific antibody recognizes Hsp27, a novel substrate of protein kinase D. *J. Biol. Chem.* **280**(15), 15013–15019.
46. Lee J.Y., Chiu Y.H., Asara J., Cantley L.C. 2011. Inhibition of PI3K binding to activators by serine phosphorylation of PI3K regulatory subunit p85 α Src homology-2 domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **108**(34), 14157–14162.
47. Uddin S., Majchrzak B., Wang P.C., et al. 2000. Interferon-dependent activation of the serine kinase PI 3'-kinase requires engagement of the IRS pathway but not

- the Stat pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **270**(1), 158–162.
48. Chen J., Deng F., Li J., Wang Q.J. 2008. Selective binding of phorbol esters and diacylglycerol by individual C1 domains of the PKD family. *Biochem. J.* **411**(2), 333–342.
 49. Oliva J.L., Griner E.M., Kazanietz M.G. 2005. PKC isozymes and diacylglycerol-regulated proteins as effectors of growth factor receptors. *Growth Factors.* **23**(4), 245–252.
 50. Weichhart T., Saemann M.D. 2008. The PI3K/Akt/mTOR pathway in innate immune cells: emerging therapeutic applications. *Ann. Rheum. Dis.* **67** Suppl 3, iii70–74.
 51. Martin M., Schifferle R.E., Cuesta N., et al. 2003. Role of the phosphatidylinositol 3 kinase-Akt pathway in the regulation of IL-10 and IL-12 by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *J. Immunol.* **171**(2), 717–725.
 52. Uthaisangsook S., Day N.K., Hitchcock R., et al. 2003. Negative regulation of interleukin-12 production by a rapamycin-sensitive signaling pathway: a brief communication. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* **228**(9), 1023–1027.
 53. Fukao T., Tanabe M., Terauchi Y., et al. 2002. PI3K-mediated negative feedback regulation of IL-12 production in DCs. *Nat. Immunol.* **3**(9), 875–881.
 54. Dann S.G., Selvaraj A., Thomas G. 2007. mTOR Complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer. *Trends Mol. Med.* **13**(6), 252–259.
 55. Wang Y., Waldron R.T., Dhaka A., et al. 2002. The RAS effector RIN1 directly competes with RAF and is regulated by 14-3-3 proteins. *Mol. Cell Biol.* **22**(3), 916–926.
 56. Hunker C.M., Galvis A., Veisaga M.L., Barbieri M.A. 2006. Rin1 is a negative regulator of the IL3 receptor signal transduction pathways. *Anticancer Res.* **26**(2A), 905–916.
 57. Corbit K.C., Trakul N., Eves E.M., et al. 2003. Activation of Raf-1 signaling by protein kinase C through a mechanism involving Raf kinase inhibitory protein. *J. Biol. Chem.* **278**(15), 13061–13068.
 58. Lorenz K., Lohse M.J., Quitterer U. 2003. Protein kinase C switches the Raf kinase inhibitor from Raf-1 to GRK-2. *Nature.* **426**(6966), 574–579.
 59. Mackay H.J., Twelves C.J. 2007. Targeting the protein kinase C family: are we there yet? *Nat. Rev. Cancer.* **7**(7), 554–562.
 60. Xiong Y., Huo Y., Chen C., et al. 2009. Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-2 tyrosine 1175 signaling controls VEGF-induced von Willebrand factor release from endothelial cells via phospholipase C-gamma 1 and protein kinase A-dependent pathways. *J. Biol. Chem.* **284**(35), 23217–23224.
 61. Guo S., Ferl G.Z., Deora R., et al. 2004. A phosphorylation site in Bruton's tyrosine kinase selectively regulates B cell calcium signaling efficiency by altering phospholipase C-gamma activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **101**(39), 14180–14185.
 62. Hu P., Luo B.H. 2013. Integrin bi-directional signaling across the plasma membrane. *J. Cell Physiol.* **228**(2), 306–312.
 63. Malinin N.L., Pluskota E., Byzova T.V. 2012. Integrin signaling in vascular function. *Curr. Opin. Hematol.* **19**(3), 206–211.
 64. Zehorai E., Yao Z., Plotnikov A., Seger R. 2010. The subcellular localization of MEK and ERK – a novel nuclear translocation signal (NTS) paves a way to the nucleus. *Mol. Cell Endocrinol.* **314**(2), 213–220.
 65. Heo J.I., Oh S.J., Kho Y.J., et al. 2011. ERK mediates anti-apoptotic effect through phosphorylation and cytoplasmic localization of p21Waf1/Cip1/Sdi in response to DNA damage in normal human embryonic fibroblast (HEF) cells. *Mol. Biol. Rep.* **38**(4), 2785–2791.
 66. Dupressoir A., Marceau G., Vernochet C., et al. 2005. Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**(3), 725–730.
 67. Potgens A.J., Drewlo S., Kokozidou M., Kaufmann P. 2004. Syncytin: the major regulator of trophoblast fusion? Recent developments and hypotheses on its action. *Hum. Reprod. Update.* **10**(6), 487–496.
 68. Chen C.P., Chen L.F., Yang S.R., et al. 2008. Functional characterization of the human placental fusogenic membrane protein syncytin 2. *Biol. Reprod.* **79**(5), 815–823.
 69. Mangeney M., Renard M., Schlecht-Louf G., et al. 2007. Placental syncytins: Genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**(51), 20534–20539.
 70. Renard M., Varela P.F., Letzelter C., et al. 2005. Crystal structure of a pivotal domain of human syncytin-2, a 40 million years old endogenous retrovirus fusogenic envelope gene captured by primates. *J. Mol. Biol.* **352**(5), 1029–1034.
 71. Tolosa J.M., Schjenken J.E., Clifton V.L., et al. 2012. The endogenous retroviral envelope protein syncytin-1 inhibits LPS/PHA-stimulated cytokine responses in human blood and is sorted into placental exosomes. *Placenta.* **33**(11), 933–941.
 72. Holder B.S., Tower C.L., Forbes K., et al. 2012. Immune cell activation by trophoblast-derived microvesicles is mediated by syncytin 1. *Immunology.* **136**(2), 184–191.
 73. Holder B.S., Tower C.L., Jones C.J., et al. 2012. Heightened pro-inflammatory effect of preclamptic placental microvesicles on peripheral blood immune cells in humans. *Biol. Reprod.* **86**(4), 103.
 74. Messerli M., May K., Hansson S.R., et al. 2010. Feto-maternal interactions in pregnancies: placental microparticles activate peripheral blood monocytes. *Placenta.* **31**(2), 106–112.
 75. de Parseval N., Lazar V., Casella J.F., et al. 2003. Survey of human genes of retroviral origin: identification and transcriptome of the genes with coding capacity for complete envelope proteins. *J. Virol.* **77**(19), 10414–10422.
 76. Perot P., Mugnier N., Montgiraud C., et al. 2012. Microarray-based sketches of the HERV transcriptome landscape. *PLoS One.* **7**(6), e40194.
 77. Cardenas W.B., Loo Y.M., Gale M., Jr., et al. 2006. Ebola virus VP35 protein binds double-stranded RNA and inhibits alpha/beta interferon production induced by RIG-I signaling. *J. Virol.* **80**(11), 5168–5178.
 78. Varga Z., Gurrola-Briones G., Papp F., et al. 2012. Vm24, a natural immunosuppressive peptide, potently and selectively blocks Kv1.3 potassium channels of human T cells. *Mol. Pharmacol.* **82**(3), 372–382.